



TITLE:

サル下垂体ゴナドトロビンの抽出 と抗体作成(IV 共同利用研究 2.研究 成果)

AUTHOR(S):

若林, 克己; 服部, 真彰; 和田, 勝; 吉田, 高志; 服部, 淳彦

CITATION:

若林, 克己 ...[et al]. サル下垂体ゴナドトロビンの抽出と抗体作成(IV 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1987, 17: 56-57

ISSUE DATE:

1987-09-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/163713>

RIGHT:

しく狭窄されている。予成象牙質は減少あるいは消失しており、これに接する象牙芽細胞も減少し、かなりの範囲にわたり同細胞の消失している領域が観察される。この象牙芽細胞は、萎縮し扁平となり、不規則な外形を呈している。核は丸く、細胞中央に位置している。細胞質は狭く、粗面小胞体やゴルジ装置などの小器官の発育は極めて悪い。しかし、ミトコンドリアはかなり多く分布しており、これに混じってしばしば大小の脂肪滴も出現している。一方、側壁の象牙質はかなり厚い予成象牙質を有し、象牙芽細胞も多く分布している。その形状も前報で述べたものに近い。

課 題 11

ニホンザルの季節繁殖における松果体の役割

森 裕司・山下晴美（東農工大・獣医）

温帯から高緯度地域に生息する哺乳類には、生殖活動が特定の季節にのみ発現する季節繁殖型の動物が多い。めん山羊などをを用いた研究から、日長の年周変化が季節繁殖性を司る主要な環境因子であり、松果体のメラトニン分泌活動の変化を介して生殖内分泌機構に影響を与えると考えられている。しかし霊長類に関する研究は少なく不明な点が多い。

ニホンザルは北限に棲む霊長類であり最も顕著な季節繁殖性を示すことが知られている。そこで本研究ではまず、人為的日長条件の負荷がニホンザルの生殖活動にどのような影響を及ぼすかについて検討した。その結果、これまでに検討された他の季節繁殖動物と異なり、ニホンザルにおける生殖機能の年周リズムは光周期の影響を受けないことが明らかとなった（60年度）。

本年度は、実験期間を延長して前年度の成績を確認するとともに、人為的日長条件下およびメラトニンを持続投与した場合における血中メラトニンの日周動態を調べて、明暗リズムと松果体機能の関連について検討した。

ニホンザルにおける血中メラトニンの日周パターンには個体差が大きく、また同じ短日繁殖動物であるめん山羊に比べて明暗リズムとの同調は不明瞭であるなど、日長処理が無効であったこととの関連を示唆するいくつかの現象が観察された。

最近、メラトニン分泌活動の変化を引き起こすのに必要な光の強さが動物種によって異なっており、霊長類では一般により強い照度を要することが指摘されている。今後は、光以外の環境因子の関与を検討すると共に、実験に用いる照明条件等についても吟味してゆく必要があるものと考えられた。

サル下垂体ゴナドトロピンの抽出と抗体作成

若林克己・服部真彰（群大・内分泌研）・
和田 勝（東医歯大・教養）・吉田高志
（予研・霊長類センター）・服部淳彦（早大・教育）

サル下垂体ゴナドトロピンの抽出および純化を試み始めた。60個のニホンザル下垂体および1.0 gのアセトン乾燥カニクイザル下垂体を材料として入手した。ゴナドトロピンの抽出・純化のために問題となるのは、精製過程でのホルモン活性の検出手法の確立である。2種類のゴナドトロピン（黄体形成ホルモン：LH、ろ胞刺激ホルモン：FSH）の活性検出には、すでに我々が確立したラジオリセプターアッセイ（RRA）によるLHの測定系と、米国N. I. H.より提供されたサル用のラジオイムノアッセイ（RIA）によるFSHの測定系とを用いることができる。しかし、ゴナドトロピンと性質のよく似ている糖タンパクホルモンの甲状腺刺激ホルモン（TSH）の測定は、サルではいままでも事実上不可能であって、ゴナドトロピン精製に着手することを困難なものにしていった。

そこで、まずサルTSHの測定系の確立を当面の目標とした。サルのTSHの測定にヒト用のRIAキットは適用できないことはすでに予備的検討で明らかである。そこでヒト用のImmunoradiometric Assay（IRMA）キットの適用を試みた。この測定系は、原理的にRIA法にくらべて適用できる動物種の範囲が広いことが期待される。カニクイザルの下垂体を用いて用量-反応性の試験をおこなったところ良好な成績が得られた。測定の信頼性を確認するために、カニクイザルで、経口投与による甲状腺ホルモン（T₄）負荷試験をおこなったが、負荷時の血液によるTSH-IRMAの測定値は、期待どおり減少した。他方、同じくカニクイザルを用いTSH放出ホルモン（T

RH)の静脈内投与をおこなったところ、IRMAによる測定値は、期待どおり増加した。以上の検討によりヒトTSH-IRMA法は、サルTSHの測定に適用可能であると判断した。

今後、サル下垂体ゴナドトロピンの精製のみならず、TSHの精製、およびそれらの精製品を用いての抗体、特にモノクローナル抗体の作製も可能となるであろう。

課 題 12

サルにおけるカンピロバクターの分布

金城俊夫(岐大・農)

カンピロバクターはヒト腸炎の起炎菌として重要な位置を占めている。今回、このカンピロバクターのサル糞便への排菌状況と本菌に対する血中抗体の分布状況を調査した。

菌検索に供試したサルは、屋内個別飼育、屋内群飼育及び屋外群飼育のもの延べ699頭である。また、抗体調査には、菌検索に使用した87頭を含む計254頭を供試し、補体結合反応によった。

その結果、カンピロバクターの排菌が699頭中92頭13.2%に確認された。排菌個体のうち61頭から*G. jejuni*, 33頭から*C. coli*, 1頭から*C. fetus*が、また、3頭からは同時に前2菌種が分離された。サルの糞便性状と菌分離との関連を調べた結果、正常便からのそれが7.5%に対し、下痢便及び軟便のそれが、それぞれ26.0%及び24.0%で、正常便に比し有意に高率で、本菌がサルにおいても腸炎の起炎菌となっている可能性が示唆された。サルの飼育形態と菌の分離率との関連を群飼育と個別飼育に分けて検討した結果、前者の分離率が23.4%(63/269)であったのに対し、後者のそれは6.2%(25/401)で、有意差が認められた。また、群飼育の場合でも、飼育密度の高い屋内群飼育で47.0%に対し、密度の低い屋外放飼場では12.9%であった。これらの成績は、本菌がサル間で水平伝播しうる可能性を示している。

一方、補体結合反応については、予めサル由来*C. jejuni*株の超音波処理抗原を用いた本反応と糞便への排菌との間に相関のあることを確認した上で、254頭について調べた。その結果、うち90頭、35.4%と高率に本抗体が検出された。特にア

カゲザルでは陽性率が61.4%(35/57)で、ニホンザルの28.3%(51/180)に比し高率であった。

以上の成績から、カンピロバクターはサルにおいてもヒトの場合と同様、腸炎起炎菌となりうること、また、本菌による腸炎がサルの間に広く蔓延していることなどが明らかになった。

内毒素血症時の骨髓、脾細胞および末梢白血球の組織因子活性

平田陸正(岩手医大・医)

ヒトのグラム陰性菌感染症においては、しばしば播種性血管内凝固(DIC)の合併症がみられる。このDICは、厚生省により難治性の特定疾患として指定されている。著者は、グラム陰性菌のリポ多糖(内毒素)がマウス骨髓細胞の組織因子(TF)活性を高めることから内毒素性DICにおける骨髓細胞の役割に注目してきた。60年度は対照群2頭、内毒素投与群2頭(Exp 1, 2)の計4頭のニホンザルを用いTF測定条件などについて検討し、これをもとに骨髓内顆粒球画分のTF活性を凝固法と蛍光合成基質法とで測定し1頭にTF活性亢進を認めた。61年度はすべて内毒素投与の実験で3頭のニホンザルを用いた(Exp 3, 4, 5)。

結果. 凝固法: プラズマに加える細胞数とプラズマの凝固時間とで得た用量反応(回帰)直線は対照群、内毒素投与群(投与12時間後の骨髓細胞)および標準TF(脳由来)間のすべての組み合わせで平行性が認められた。内毒素投与群の骨髓細胞のTF活性の対照群に対する相対力価は、1.6~11.7であり5頭のうち3頭にTF活性亢進がみられた(Exp 1: 5.7, Exp 2: 1.6, Exp 3: 5.9, Exp 4: 1.8, Exp 5: 11.7)。合成基質法: 対照群に対してExp 1~5でそれぞれ6.0, 1.0, 42.4, 1.8, 18.4と凝固法と相関して3頭にTF活性の亢進が認められた。特異性や感度の点で合成基質法が優れていた。以上、ニホンザルにおいても内毒素により骨髓内顆粒球画分にTF活性の亢進が認められた。対照群のTF活性には個体差が少なかったが、内毒素投与群では個体により感受性の差がみられた。内毒素投与群5頭の年齢は1.5~19才で体重2.7~8.5kgであり、概して高齡なサル程骨髓内の細胞数が少なく内毒素